

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 05-286955

(43) Date of publication of application : 02.11.1993

(51) Int.Cl.

C07D303/36
A01N 43/20
A01N 63/02
C12P 17/02
//(C12P 17/02
C12R 1:465)

(21) Application number : 04-118528

(71) Applicant : NIPPON KAYAKU CO LTD

(22) Date of filing : 13.04.1992

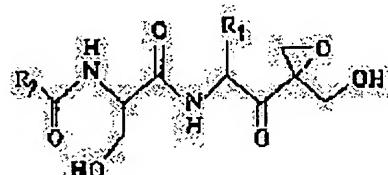
(72) Inventor : KOBAYASHI SHINICHI
HARADA TAKASHI
KOBAYASHI KENJI
ISHIZAKA KEIKO
NISHIDE MITSUYUKI
HAYAOKA TATSUMI
NAKAGAWA TAIZO

(54) PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE NK-04000P, NK-04000Q, THEIR PRODUCTION, AND HERBICIDE CONTAINING THE SAME AS ACTIVE INGREDIENT

(57) Abstract:

PURPOSE: To provide the new physiologically active substance useful as a herbicide for agriculture and for non-cultivated lands.

CONSTITUTION: The compound of the formula [R1 is -CH₂C(=CH₂)CH₃, -CH₂CH(CH₃)₂; R2 is -(CH₂)₅CH(CH₃)₂]. The compound is obtained by culturing a strain belonging to the genus Streptomyces and having an ability to produce the NK-04000P and the NK-04000Q in a proper medium (e.g. sucrose/nitrate salt/ agar) under an aerobic condition, separating the product by a method such as centrifugal method and subsequently purifying the separated product. The substance can be used as an agricultural and horticultural germicide, insecticide,



plant growth regulating agent, and acaricide. The dose thereof is 1 to 300g per 100 area expressed in terms of effective ingredient.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 15.02.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3107326

[Date of registration] 08.09.2000

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right] 08.09.2003

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-286955

(43)公開日 平成5年(1993)11月2日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 07 D 303/36				
A 01 N 43/20		8930-4H		
63/02	G	8517-4H		
C 12 P 17/02		8931-4B		
// (C 12 P 17/02				

審査請求 未請求 請求項の数7(全10頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平4-118528	(71)出願人	000004086 日本化薬株式会社 東京都千代田区富士見1丁目11番2号
(22)出願日	平成4年(1992)4月13日	(72)発明者	小林 伸一 埼玉県上尾市井戸木1-27
		(72)発明者	原田 隆 東京都大田区羽田3-15-11
		(72)発明者	小林 賢司 埼玉県鴻巣市ひばり野1-2-15
		(72)発明者	石坂 圭子 埼玉県春日部市花積152県職員住宅404号
		(72)発明者	西出 充之 埼玉県与野市上落合1039
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 生理活性物質NK-04000P、NK-04000Q、その製造法及びそれを有効成分として含有する除草剤

(57)【要約】

【構成】本発明はストレプトミセス属に属する菌NK-04000が生産する新規生理活性物質に関する。該生理活性物質は農薬として有用な物質である。

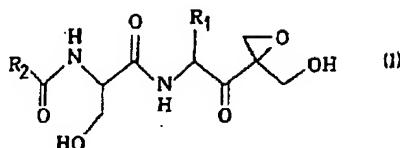
【効果】農業用および非農耕地用の除草剤として良好な活性を有する。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】式

【化1】



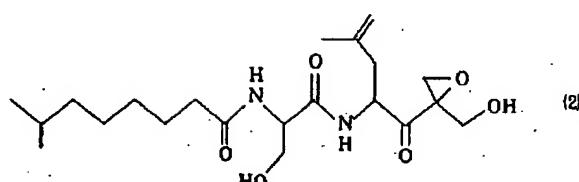
2

* (式中 R₁ は -CH₂ C (=CH₂) CH₃ または -CH₂ CH (CH₃)₂ を示し、R₂ は - (CH₂)₅ CH (CH₃)₂ を表す) で表される生理活性物質。

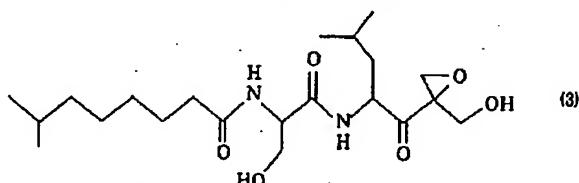
【請求項2】式

【化2】

*



で示される請求項1に記載の生理活性物質NK-040
00P。

※【請求項3】式
※【化3】

で示される請求項1に記載の生理活性物質NK-040
00Q。

【請求項4】ストレプトミセス属に属しNK-0400
0Pおよび/又はNK-04000Qの生産能を有する
菌株を適当な培地で好気的に培養し、その培養物より請
求項2および請求項3に記載の式(2)および(3)で
表される生理活性物質NK-04000Pおよび/又は
NK-04000Qを得ることを特徴とする、NK-0 30
4000PおよびNK-04000Qの製造法。

【請求項5】生理活性物質NK-04000PおよびN
K-04000Qの生産菌株がストレプトミセスエスピ
ーNK-0400またはその変異株または突然変異株で
ある請求項4に記載の方法。

【請求項6】請求項2に記載の式(2)で表される生理
活性物質NK-04000Pを還元することを特徴とする
請求項3に記載の式(3)で表される生理活性物質N
K-04000Qの製造法。

【請求項7】請求項1に記載の式(1)に示される生理
活性物質NK-04000P及び/又はNK-0400
0Qを有効成分として含有することを特徴とする除草
剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は新規抗生物質NK-04
000P、NK-04000Q、その製造法およびそれ
を有効成分とする除草剤に関する。

【0002】

【従来の技術】本発明の化合物に構造が関連している物 50 【0006】(式中 R₁ は -CH₂ C (=CH₂) CH₃

質には、特開平2-72167に記載されている抗腫瘍
性物質BU-3862Tがある(該化合物はまたはE P
O N E M Y C I NとしてThe Journal of Antibiot
ics 43 (1) 8-18, 1990にも発表されてい
る。)が本発明物質はこれとは異なる。また本発明の化
合物に構造が関連している除草性物質は知られていない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】従来主に使用されてい
る合成除草剤に変わって、微生物の代謝産物として得ら
れる新規な除草剤が農業用および非農耕地用共に求めら
れている。

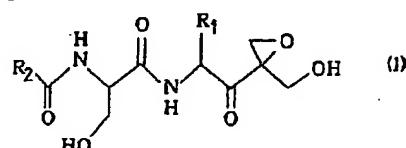
【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは微生物の代
謝産物についてその除草活性を検索するスクリーニング
を実施した結果、ストレプトミセス属に属する一菌株が
新規生理活性物質NK-04000PおよびNK-04
000Qを产生することおよび該抗生物質が優れた除草
活性を有することを見出した。すなわち本発明は、

1. 式

【0005】

【化4】



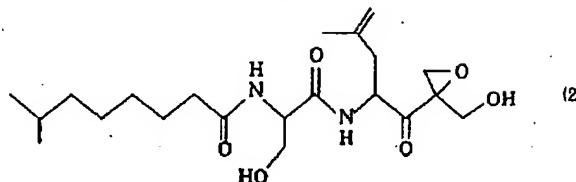
3

4

または $-CH_2-CH(CH_3)_2$ を示し、R₂は $-CH(CH_3)_2$ を表す)で表される生理活性物質
【化5】

2. 式

*



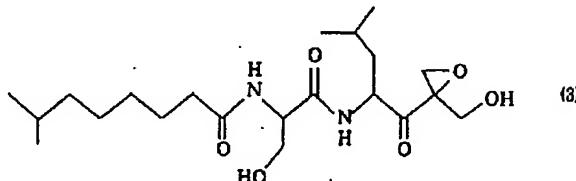
【0008】で示される生理活性物質NK-04000 10※【0009】

P

【化6】

3. 式

※



【0010】で示される生理活性物質NK-04000

Q

4. ストレプトミセス属に属しNK-04000Pおよび/又はNK-04000Qの生産能を有する菌株を適当な培地で好気的に培養し、その培養物より式(2)および(3)で表される生理活性物質NK-04000Pおよび/又はNK-04000Qを得ることを特徴とする、NK-04000PおよびNK-04000Qの製造法。

【0011】5. 生理活性物質NK-04000PおよびNK-04000Qの生産菌株がストレプトミセスエスピ- NK 4 0 0 0 (微研菌寄第12749号)またはその変異株または突然変異株である4に記載の方法

6. 式(2)で表わされる生理活性物質NK-04000Pを還元することを特徴とする式(3)で表わされる生理活性物質NK-04000Qの製造法

【0012】7. 式(1)で示される生理活性物質NK-04000PおよびNK-04000Qを単独または混合した有効成分として含有する除草剤に関する。

【0013】上記新規生理活性物質NK-04000P

およびNK-04000Qはストレプトミセス属に属するNK-04000PおよびNK-04000Q生産菌を培養し、生理活性物質NK-04000PおよびNK-04000Qを生成蓄積せしめ、この培養物より生理活性物質NK-04000PおよびNK-04000Qを採取することより得られる。生理活性物質NK-04000PおよびNK-04000Qの生産菌の代表的な1例は次の菌学的および生理学的性質を有する。

【0014】1. 形態的性質
27℃で2週間後に観察した結果、気菌糸は単純分岐し、その先端はらせん状である。胞子のう及び輪生糸の形成は認められない。胞子表面は粗面あるいは平滑で、胞子はシリンダー型で、大きさ $0.7 \sim 0.9 \times 0.9 \sim 1.2 \mu\text{m}$ である。また20個以上の連鎖をなして胞子が形成される。

2. 各種培地における生育
各種培地上、27℃、2週間後の生育状態を下記表1に示す。

【00015】

【表1】

培地	生育	気菌糸	基生菌糸	可溶性色素
シュクロース・硝酸塩	適度	適度、明るい灰～明るい茶灰	無色～淡黄色	なし
寒天培地				
グルコース・アスパラ	適度	豊富、明るい灰～黒色	淡褐色	なし
ギン寒天培地		(ハイグロスコピック)		
グリセリン・アスパラ	適度	豊富、茶白～黒	淡褐色	なし
ギン寒天培地		(ハイグロスコピック)		
スター・無機塩寒天	適度	適度、明るい灰～明るい茶灰	淡褐色	なし
培地				
チロシン寒天培地	適度	豊富、茶白～黒 (ハイグロスコピック)	淡褐色	茶色味

5

栄養寒天培地	適度	適度、白色	気菌系	
イースト・麦芽寒天培地	良好	適度、茶白～黒 (ハイグロスコピック)	基生菌系	可溶性色素
オートミール寒天培地	良好	豊富、茶白～黒 (ハイグロスコピック)	淡褐色	なし
ペプトン・イースト鉄寒天培地	適度	貧弱、白色	無色	なし

6

無色～淡黄色	なし
基生菌系	可溶性色素
淡褐色	なし

【0016】3. 生理学的性質

- ① 生育適度範囲：20～37℃
- ② 硝酸塩の還元：陽性
- ③ ゼラチンの液化（グルコース・ペプトン・ゼラチン培地上、20℃）：陽性
- ④ スターチの加水分解（スターチ・無機塩寒天培地）：陽性
- ⑤ 脱脂牛乳の凝固：陰性
- ⑥ 脱脂牛乳のペプトン化：陽性
- ⑦ メラニン様色素の生成：陰性

4. 炭素源の利用性（ブリドハム・ゴドリーブ寒天培地上）

L-アラビノース	+
D-キシロース	+
D-グルコース	+
D-フラクトース	+
シュクロース	+
イノシトール	+
L-ラムノース	+
ラフィノース	+
D-マニトール	+

【0017】5. 細胞壁中のジアミノピメリレン酸

L-L-ジアミノピメリレン酸である。以上を要約すると、本菌株は細胞壁がL-L-ジアミノピメリレン酸であり、インターナショナル・ストレプトミセス属・プロジェクト（略称ISP）の方法によれば、胞子形成菌系の形態は、セクションスパイラルズ（Spirales）に属し、胞子表面は粗面あるいは平滑で、成熟した菌糸の色は灰色系統（Gray color series）で、メラニン様色素は生産しない。また培地中に色素はほとんど生産しない。基生菌糸の色は淡褐色あるいは淡黄色を呈する。炭素源としてはL-アラビノース、D-グルコース、D-フラクトース、シュクロース、イノシトール、L-ラムノース、ラフィノース、D-マニトール、D-マニトール、D-キシロースを利用する。

【0018】以上の性質をもとにアール・イー・ブッファナン・アンド・エヌ・イー・ギボンズ編、バージーズ・マニュアル・オブ・デタミネーティブ・バクテリオロジー（Bergey's Manual of Determinative Bacteriology）第8版、1974年に従って検索を行った結果、上記NK-04000株はストレプトミセス属に属す

ことが判明したので、本菌をストレプトミセススピーエ（*Streptomyces sp.*）NK-04000と命名した。該菌株は、工業技術院微生物工業技術研究所に、微研菌寄第12749号として寄託されている。

【0019】本発明の生理活性物質は、上記NK-04000株を利用して有利に製造できる。また、一般に放線菌は自然にまたは人工的にその性状が変異しやすいものであり、本発明生理活性物質はNK-04000株の変異株を利用して製造することができ、さらに上記に限らずストレプトミセス属に属する公知の各種菌を利用するこによっても製造することができる。

【0020】本発明によりNK-04000P及びNK-0400Qを製造するには、先ず前記菌株を放線菌を利用し得る栄養物を含有する培地で好気的に培養する。栄養源としては、従来から放線菌の培養に利用されている公知のものが使用でき、例えば、炭素源としてはグルコース、フラクトース、グリセリン、シュクロース、デキストリン、ガラクトース、有機酸など単独かまたは組み合せて用いることができる。無機および有機窒素源としては塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、尿素、硝酸アンモニウム、硝酸ナトリウム、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、乾燥酵母、コーン・スチーブ・リカ一、大豆粉、綿実油カス、カザミノ酸、バクトソイトン、ソリュブル、ベジタブル、プロテイン、オートミールなどを単独または組み合せて用いることができる。その他必要に応じて食塩、炭酸カルシウム、硫酸マグネシウム、硫酸銅、硫酸鉄、硫酸亜鉛、塩化マンガン、磷酸塩などの無機塩類を加えることができるほか有機物、たとえばアミノ酸類、ビタミン類、核酸類や無機物を適当に添加することができる。培養法としては液体培養法、特に深部攪拌培養法が最も適している。培養温度は20～45℃、pHは微酸性ないし微アルカリ性で培養を行うことが望ましい。液体培養では通常1～5日間培養を行うとNK-04000PおよびNK-04000Q物質が培養液中に生成蓄積される。培養液中の生成量が最大に達したときに培養を停止し、菌体をろ別して得られる培養液中より目的物を精製単離する。

【0021】培養物からのNK-04000PおよびNK-04000Qの精製単離には一般に微生物代謝産物をその培養液から単離するために用いられる分離精製の方法が用いられる。例えば、培養物を遠心分離法または

濾過法により濾液（上清）と沈殿に分離する。濾液は多孔性高分子樹脂に吸着させ、樹脂を水洗した後アセトンで溶出し、沈殿はアセトンまたはメタノールのような水溶性の溶媒で抽出し、得られた溶液をそのまま、あるいは濃縮した後水と混ざりにくい一般有機溶媒に転溶し、減圧にて濃縮することによりNK-04000PおよびNK-04000Qを含む油状物質を得る。粗物質はさらに脂溶性の物質の精製に通常用いられる公知の方法、すなわち、溶媒分配、シリカゲルをもちいるクロマトグラフィー、ゲル濾過法、高速液体クロマトグラフィーなどを適宜組合せることにより精製する。精製に好適な例としては、上記粗物質をヘキサンとアセトニトリルで分配して、アセトニトリル層を濃縮し、濃縮残渣をシリカゲルクロマトグラフィーに溶出液としてヘキサン-アセトンを用いてかける。得られた活性分画を濃縮し、必要に応じてもう一度シリカゲルクロマトグラフィーにかけ、得られた活性分画を濃縮し、セファデックスLH-20分子ふるいカラムを通し、得られた活性分画を濃縮し、ODS系カラムを用いた逆相系高速液体クロマトグラフィーを用いて分取することによりNK-04000PおよびNK-04000Qを単独および／または混合物として得ることができる。

【0022】NK-04000QはまたNK-04000Pを還元することでも得ることができる。例えば、水素気流下適当な触媒、例えば5～20%Pd-Cを用いて、室温、常圧下場合には加温、加圧することにより、NK-04000Pを接触水素化することで、NK-04000Qを得ることができる。

【0023】以上のようにして得られたNK-04000PおよびNK-04000Qの理化学的な性状を次に示す。

【0024】NK-04000P：

(1) 外観

無色粘着性の油状

(2) 比旋光度

$[\alpha]_D^{24} +26 \pm 3^\circ$ (c 0.1 MeOH)

(3) 高分解能マススペクトル (FABMS法)

MH⁺ 実測値 413.2666

計算値 413.2652 (C₂₁H₃₈N₂O₆として)

(4) 分子式

C₂₁H₃₈N₂O₆

(5) 紫外部吸収スペクトル (メタノール中)

202 ± 3 nm

(6) 赤外部吸収スペクトル (KC1) (図1)

主な吸収波数を示す (cm⁻¹)

3301, 2928, 1722, 1644, 1536, 1462, 1382, 1249, 1050, 899

【0025】(7) ¹³C-核磁気共鳴スペクトル (100 MHz)

重クロロホルム中 (図3)

(8) 1H-核磁気共鳴スペクトル (400 MHz)

重クロロホルム中 (図5)

(9) 溶解性

易溶：メタノール、アセトニトリル、アセトン、クロロホルム、酢酸エチル、

難溶：水

(10) 薄層クロマトグラフィー

シリカゲル薄層 (Kiesel Gel 60 F 254 0.5 mm メルク社) を使用し、n-ヘキサン：アセトン (1: 1) を用いて展開するとR_f 値は0.3付近である。

(11) 呈色反応

パニリン-硫酸に加熱して陽性。

【0026】NK-04000Q：

(1) 外観

無色粘着性の油状

(2) 比旋光度

$[\alpha]_D^{24} +34 \pm 3^\circ$ (c 0.1 MeOH)

(3) 高分解能マススペクトル (FABMS法)

MH⁺ 実測値 415.2793

計算値 415.2808 (C₂₁H₃₈N₂O₆として)

(4) 分子式

C₂₁H₃₈N₂O₆

(5) 紫外部吸収スペクトル (メタノール中)

202 ± 3 nm

(6) 赤外部吸収スペクトル (KC1) (図2)

主な吸収波数を示す (cm⁻¹)

3292, 2956, 1718, 1645, 1540, 1465, 1386, 1048, 914

【0027】(7) ¹³C-核磁気共鳴スペクトル (100 MHz)

重クロロホルム中 (図4)

(8) 1H-核磁気共鳴スペクトル (400 MHz)

重クロロホルム中 (図6)

(9) 溶解性

易溶：メタノール、アセトニトリル、アセトン、クロロホルム、酢酸エチル、

難溶：水

(10) 薄層クロマトグラフィー

シリカゲル薄層 (Kiesel Gel 60 F 254 0.5 mm メルク社) を使用し、n-ヘキサン：アセトン (1: 1) を用いて展開するとR_f 値は0.3付近である。

(11) 呈色反応

パニリン-硫酸に加熱して陽性。

【0028】化学構造：本発明による新規生理活性物質NK-04000PおよびNK-04000Qは前記の式(2)および式(3)で示される化学構造式を有する。これらの化学構造式は、次のように決定された。NK-04000Pのプロトン核磁気共鳴スペクトルおよび炭素-13核磁気共鳴スペクトルおよび赤外吸収スペクトルおよび紫外線吸収スペクトルによりNK-04000

OPは既知物質の前記Eponemycin (the journal of antibiotics 43 (1) 8-18, 1990) の構造類似体であることが分かった。高分解能マススペクトルより分子式は $C_{21}H_{36}N_2O_6$ と決定された。この分子式はEponemycinよりメチレン基(CH_2)が1個多く、その位置は上記各種のスペクトルおよびH-H COSY 2次元NMRスペクトルにより式(2)のように決定された。NK-04000Qの構造は高分解能マススペクトルより分子式は $C_{21}H_{38}N_2O_6$ と決定され、プロトン核磁気共鳴スペクトルおよび炭素13核磁気共鳴スペクトルおよび赤外吸収スペクトルおよび紫外線吸収スペクトルによりNK-04000Pの類似体であり、式(2)のエンドメチレンが還元された形のジヒドロ体であることが分かり、式(3)の構造であると決定された。

【0029】本発明の生理活性物質NK-04000PおよびNK-04000Qを農園芸用除草・植物生長調節・殺菌剤として使用する場合、使用目的に応じてそのままか又は効果を助長あるいは安定にするために農薬補助剤を混用して、農薬製造分野において一般に行なわれている方法により、粉剤、細粒剤、粒剤、水和剤、フロアブル剤、マイクロカプセル剤、油剤、エアゾール、加熱燐蒸剤（蚊取線香、電気蚊取など）、フォッギングなどの煙霧剤、非加熱燐蒸剤、毒餌などの任意の製剤形態にして使用できる。これらの種々の製剤は実際の使用に際しては直接そのまま使用するか、または水で所望の濃度に希釈して使用することができる。また、これらの製剤は、有効成分として、本発明生理活性物質NK-04000PおよびNK-04000Qを0.1~99.9%、好ましくは0.2~80%含有するように、通常の30製剤方法に従って調整する。

【0030】上記の農薬補助剤としては担体（希釈剤）およびその他の補助剤たとえば展着剤、乳化剤、温展剤、分散剤、固着剤、崩壊剤等をあげることができる。担体のうち液体担体としては、トルエン、キシレンなどの芳香族炭化水素、メタノール、ブタノール、グリコールなどのアルコール類、アセトン等のケトン類、ジメチルホルムアミド等のアミド類、ジメチルスルホキシド等のスルホキシド類、メチルナフタレン、シクロヘキサン、動植物油、脂肪酸、脂肪酸エステルなど、また灯油、軽油等の石油分留物などがあげられる。

【0031】固体担体としてはクレー、カオリン、タルク、珪藻土、シリカ、炭酸カルシウム、モンモリロナイト、ペントナイト、長石、石英、アルミニ、鋸屑などがあげられる。また乳化剤または分散剤としては通常界面活性剤が使用され、たとえば高級アルコール硫酸ナトリウム、ステアリルトリルメチルアンモニウムクロライド、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル、ウラリルベタインなどの陰イオン系界面活性剤、陽イオン系界面活性剤、非イオン系界面活性剤、両性イオン系界

面活性剤があげられる。

【0032】又、展着剤としてはポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル、ポリオキシエチレンウラリルエーテルなどがあげられ、温展剤としてはポリオキシエチレンノニルフェニルエーテルジアルキルスルホサクシネットなどがあげられ、固着剤としてカルボキシメチルセルロース、ポリビニルアルコールなどがあげられ、崩壊剤としてはリグニンスルホン酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウムなどがあげられる。いずれも製剤もそのまま単独で使用できるのみならず、他の農園芸用殺菌剤、殺虫剤、植物生長調節剤、殺ダニ剤と混合して使用することもできる。

【0033】本発明のNK-04000PおよびNK-04000Qを農園芸用除草・植物生長調節・殺菌剤として施用する場合、その施用量は通常10アールあたり有効成分量で1~300g、好ましくは15~200gが使用される。その施用濃度は水和剤、液剤等水で希釈して施用する場合、0.001~0.4%の範囲が好ましい。また、粉剤、粒剤、微粒剤等の場合は、剤型、使用する方法、時期、その他の条件によって異なり、さらに上記の範囲にこだわることなく増減し、濃度を変更してもよい。

【0034】

【実施例】以下本発明の実施例を示すが、これは単なる一例示であって何等本発明を限定するものでなく、種々の変法が可能である。

【0035】製造例1

ロータリー型振盪機用500ml容三角フラスコにグリセリン2%、可溶性澱粉2%、大豆粉2%、食塩0.3%の培地(pH7.0)100mlを分注し、120℃、20分間オートクレープ滅菌した。これにNK04000株（微研菌寄第12749号）の1白金耳を接種し、27℃、220回転/分、2日間振盪した。これとは別にロータリー型振盪機用500ml容三角フラスコにグリセリン2%、可溶性澱粉2%、大豆粉2%、食塩0.3%の培地(pH7.0)100mlを分注し、120℃、20分間オートクレープ滅菌したフラスコ98本に前記培養液各2mlを移植し、27℃、220回転/分の条件下で4日間振盪培養した。培養液を濾過した。培養液を濾過し、濾液と菌体に分け、濾液はダイアイオンHP-20（三菱化成工業株式会社）に吸着させ、水5リットルつづいて50%アセトン水3リットルで洗浄した後、アセトン4リットルで溶出した。溶出液をおよそ300mlまで濃縮し、酢酸エチル2リットルで抽出する。飽和食塩水で洗浄した後無水硫酸ナトリウムで脱水し、減圧濃縮すると0.8gの粗物質(1)が得られる。菌体はアセトン10リットルで抽出し、濾過して菌体を除き、濾液をおよそ3リットルまで濃縮し、酢酸エチル6リットルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下濃縮する。濃縮残渣をヘキ

11

サンとアセトニトリルで分配し、アセトニトリル層を濃縮すると4.2gの粗物質(2)を得た。粗物質(1)と粗物質(2)を合わせてシリカゲル60(メルク社)を用いたカラムクロマトグラフィーにヘキサンーアセトンを溶媒としてかけた。得られた活性分画0.43gをセファデックスLH-20(ファルマシア社)のカラムにメタノールを溶出液としてかけた。得られた活性分画0.34gをメタノールに溶解し、少量ずつ逆相系の液体クロマトグラフィーで分取した。使用したカラムは Waters μ Bondasphare 5C18 19×150、溶媒条件はメタノール:蒸留水 70:30 流速9.6ml/分であった。屈折率計またはUV計でUV 212 nm またはUV 220 nmで検出されるピークを分取する。溶出時間12分にNK-04000Pが、14.3分付近にNK-04000Qが溶出してくれる。なお上記溶出時間はカラムのロットおよび使用状態で変化する。それぞれ分取したピーク成分をもう一度同じ条件で分取し、NK-04000Pを35mg、NK-04000Qを17mg得た。

【0036】製造例2

NK-04000P(5mg)をメタノール中で水素気流下、室温で、20%Pd/Cの存在下に10時間常圧で反応した後、濾過して触媒を取り除き、濾液を減圧下濃縮し、残渣をセファデックスLH-20カラムにかけた後、製造例1で示した高速液体クロマトグラフィーで分取して、NK-04000B(1mg)を得た。

【0037】製剤例1 農園芸用水和剤

本発明NK-04000P、20部とカオリン75部と高級アルコール硫酸ナトリウム3部およびポリアクリル酸ナトリウム2部とを混合粉碎し、水和剤とする。

製剤例2 農園芸用乳剤

本発明NK-04000Q、30部をキシレン53部に*

10

12

*溶解し、これにアルキルフェノールエチレンオキシド縮合物とアルキルベンゼンスルホン酸カルシウムの混合物(8:2)17部を混合溶解して乳剤とする。本剤は水で薄めて、乳濁液として使用する。

【0038】製剤例3 農園芸用粉剤

本発明NK-04000P、1部にタルクと炭酸カルシウムの混合物(1:1)97部を加え混合磨碎して充分均等に分散配合した後、さらに無水珪酸2部を添加し、混合粉碎し粉剤とする。本剤はこのまま散布して使用する。

製剤例4 農園芸用粒剤

本発明NK-04000Q、2部をペントナイト微粉末48部、タルク48部、リグニンスルホン酸ナトリウム2部と混合した後、水を加え均等になるまで混練する。次に射出成型機を通して造粒し、整粒機、乾燥機篩を通して粒径0.6~1mmの粒剤とする。本剤は直接水田面および土壌面に散粒して使用する。つぎにNK-04000PおよびNK-04000Qの生物活性について述べる。

20 【0039】試験例1

NK-04000PおよびNK-04000Qの除草効果

試験方法

径10cm、深さ12cmのプラスチックポットに雑草およびトウモロコシ、ダイズの種子をそれぞれ播種し、雑草が3葉期に生育した時点でNK-04000PおよびNK-04000Qの所定薬量希釈液を茎葉全面に散布した。調査は処理12日後に0~5の6段階の指數で除草効果を観察調査した。結果を表2に示す。

30 NK-04000Pの除草効果

【0040】

【表2】

	濃度 (ppm)	雑草 エノコログサ	作物 イチビ	作物 ダイズ	作物 トウモロコシ
NK-04000P	2000	5	5	5	5
	1000	5	5	2	2
	500	3	2	0	0
	250	2	1	0	0

【0041】除草効果

5	100%枯死	2	40%枯死
4	80%枯死	1	20%枯死
2	60%枯死	0	効果なし

NK-04000Qの除草効果

【0042】

【表3】

	濃度 (ppm)	雜草作物			
		エノコログサ	イチビ	ダイズ	トウモロコシ
NK-04000Q	2000	5	5	5	5
	1000	5	5	1	2
	500	3	1	0	0
	250	0	0	0	0

【0043】除草効果

5	100%枯死	2	40%枯死
4	80%枯死	1	20%枯死
2	60%枯死	0	効果なし

【0044】

【発明の効果】本発明により生理活性物質NK-0400PおよびNK-04000Qが提供され、該生理活性物質は除草活性が優れている。

【図面の簡単な説明】

【図1】NK-04000Pの赤外線吸収スペクトル(KC1法)を示す。

10 【図2】NK-04000Qの赤外線吸収スペクトル(KC1法)を示す。

【図3】NK-04000Pの¹³C-核磁気共鳴スペクトル(CDC1₃中)を示す。

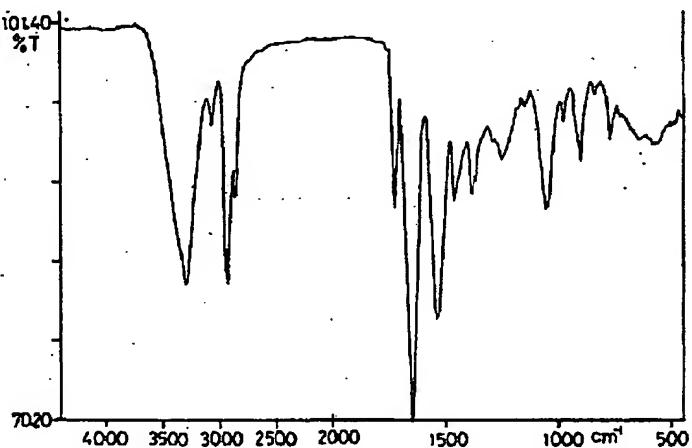
【図4】NK-04000Qの¹³C-核磁気共鳴スペクトル(CDC1₃中)を示す。

【図5】NK-04000Pの¹H-核磁気共鳴スペクトル(CDC1₃中)を示す。

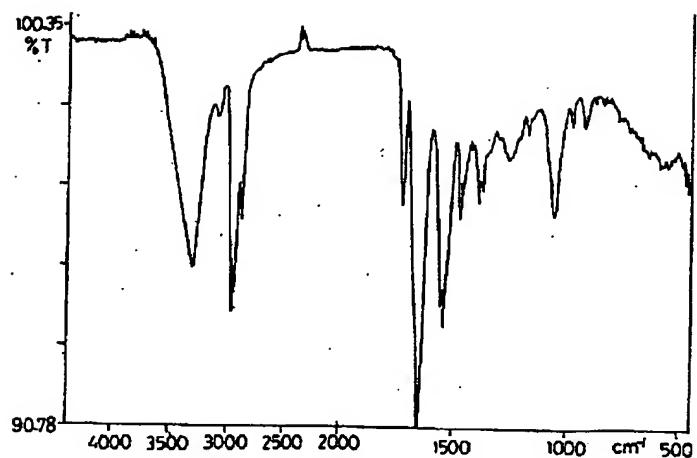
【図6】NK-04000Qの¹H-核磁気共鳴スペクトル(CDC1₃中)を示す。

20

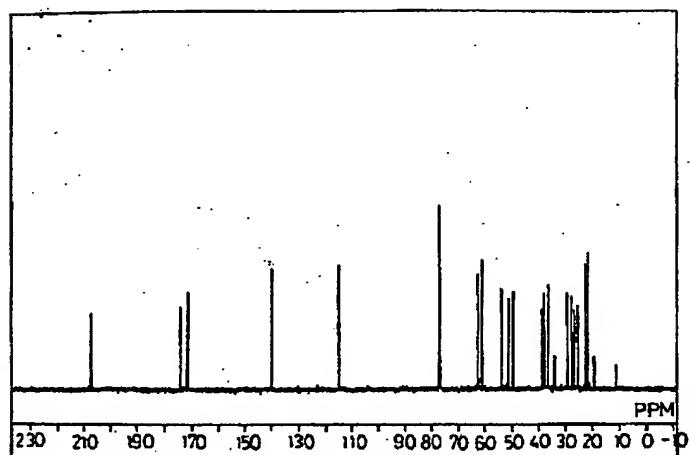
【図1】



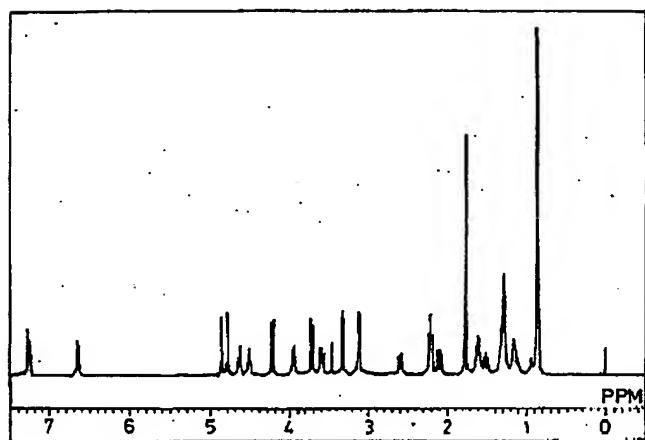
【図2】



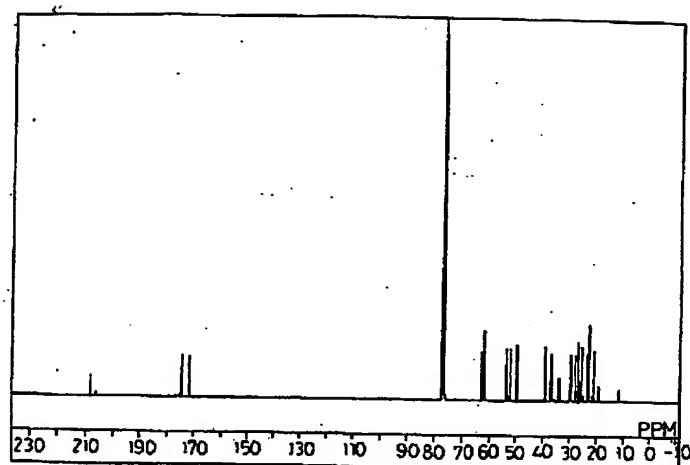
【図3】



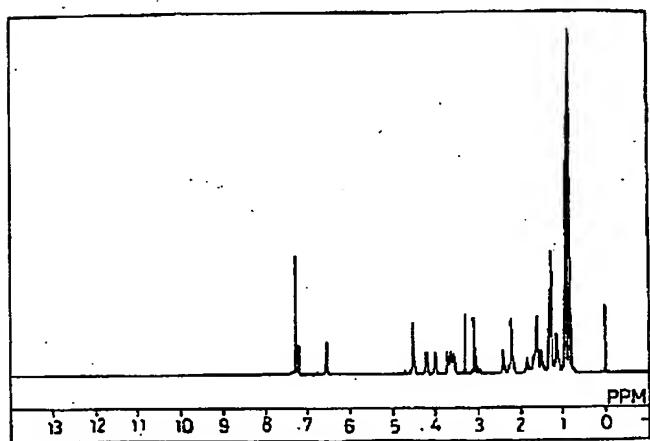
【図5】



【図4】



【図6】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁵

C 12 R 1:465)

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

(72)発明者 早岡 辰巳

埼玉県与野市上落合1039

(72)発明者 中川 泰三

埼玉県大宮市三橋4-671-3